

暗所閾値電位(Scotopic threshold response, STR)

記録装置の開発

若林 謙二*, 斎藤 友護*, 石坂 伸人*, 瀬川 要司*
河崎 一夫*, 堀田 素志**, 松浦 弘毅**

*金沢大学医学部眼科学教室, **金沢大学工学部電気・情報工学科

要 約

網膜電図の新要素として近年確認された暗所閾値電位 (Scotopic threshold response, STR) は杆体系網膜内層機能の指標として利用できる可能性が高く, 種々の網膜疾患における STR の臨床応用がそれらの疾患の病態解明に資すると期待される。しかし STR は極めて微弱な電位であるので, 従来の記録装置では瞬目や眼球運動などのアーティファクトの影響を受けやすく, その安定した記録は容易ではなく, さらに STR を得るためには暗順応絶対閾値近傍の極めて暗い刺激光が必要である。今回我々は STR の記録に適した刺激光を得るための全視野刺激ドームおよびリモコン式フィルター変換装置を備えた刺激光コントロール装置を試作し, さらに ERG 信号をデジタル処理することによって自動的にアーティファクト除去を行うためのソフトウェアを開発した。この装置を用いることによって暗順応絶対閾値近傍の極めて暗い刺激光によってのみ惹起され, 非常に微弱な電位である STR の安定した記録に成功した。(日眼会誌 95:92-96, 1991)

キーワード: 暗所閾値電位, 網膜電図, 暗所視機能

Recording System for the Scotopic Threshold Response

Kenji Wakabayashi*, Yugo Saitoh*, Nobuto Ishisaka*, Yoji Segawa*,

Kazuo Kawasaki*, Motoshi Horita** and Kohki Matsuura**

*Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kanazawa University

**Department of Electrical and Computer Engineering, Faculty of Technology, Kanazawa University

Abstract

The scotopic threshold response (STR) is a newly investigated component of the electroretinogram. Since the STR reflects post-photoreceptor processing in the retina at intensities near absolute threshold, the STR would be a useful index to evaluate the rod pathway in the proximal retina. A conventional ERG setup, however, involves difficulties in STR recording. Therefore we constructed a new recording system for the purpose. The characteristics of the apparatus are as follows: 1) A diffusing sphere provides full-field stimuli ranging from a very dim light near absolute threshold to a very bright light. 2) A remote-control system for changing filters is used to avoid breakdown of the dark-adapted status. 3) A software artifact rejection routine is used to exclude responses influenced by eye movements and blinks. Using the apparatus we have examined the human STR and generally

別刷請求先: 920 金沢市宝町13-1 金沢大学医学部眼科学教室 若林 謙二
(平成2年4月25日受付, 平成2年5月29日改訂受理)

Reprint requests to: Kenji Wakabayashi M.D. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kanazawa University

13-1 Takara-machi, Kanazawa 920, Japan

(Received April 25, 1990 and accepted in revised form May 29, 1990)

confirmed the previous findings. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 92-96, 1991)

Key words: Scotopic threshold response (STR), Electroretinogram (ERG), Scotopic vision

I 緒 言

網膜電図の新要素として近年確認された暗所閾値電位 (Scotopic threshold response, STR)¹⁾はヒト, ネコ, サルにおいて杆体作動性であることが証明され²⁾, さらにその postsynaptic な起源がサルとネコで実証された³⁾. したがって STR は杆体系網膜内層機能の指標として利用できる可能性が高く, STR の種々の網膜疾患への臨床応用がそれらの疾患の病態解明に資すると期待される. しかし STR は極めて微弱な電位であるので, 従来の記録装置では瞬目や眼球運動などのアーティファクトの影響を受けやすく, その安定した記録は容易ではない. さらに STR を得るためには暗順応絶対閾値近傍の極めて暗い刺激光が必要である. 今回我々は STR の記録に適した刺激光を得るための全視野刺激ドームおよびリモコン式フィルター変換装置を備えた刺激光コントロール装置を試作し, さらに ERG 信号をデジタル処理することによって自動的にアーティファクト除去を行うためのソフトウェアを開発した. この装置を用いることによって暗順応絶対閾値近傍の極めて暗い刺激光によってのみ惹起され, 非常に微弱な電位である STR の安定した記録に成功した.

II 方 法

1. 刺激装置

全視野刺激用の積分球, 刺激光用および背景光用の2つのランプハウスおよび遠隔制御装置より成る (図1). 積分球は直径600mmで, 内面には拡散性白色塗装が施され, 直径200mmの観察窓を有し, 顔を観察窓下端の頸台にのせることによって網膜全面刺激が得られる. 刺激光用ランプハウスはコールドミラー付き300Wハロゲンランプを内蔵し, 0から2.7logまでの9ステップ(0, 0.3, 0.7, 1.0, 1.3, 1.7, 2.0, 2.3, 2.7log)の中性フィルターの交換および電磁シャッターの開閉を明室に置いた制御装置によって遠隔操作される. 追加用中性フィルター挿入孔に3または6logの中性フィルターを追加することによって, 9logの広域にわたる ERG intensity series の刺激光を容易に得られる. 背景光用のランプハウスを用いれば任意の順応レ

ベルにおける ERG intensity series の記録も可能である.

2. 記録装置

図2に加算記録装置の概要を示す. 加算装置は16ビットマイクロコンピュータ, アナログ/デジタル(A/D)変換器, カラーディスプレイおよびX-Yプロッタより構成される. ERG波形およびそれを同期加算するためのトリガ信号を16チャンネルA/D変換器の第1および第2チャンネルにそれぞれ入力する. この際A/D変換器の入力範囲 $\pm 5V$ を有効に利用するため, デジタルI/Oを通してコンピューターから制御できるプログラマブル増幅器を用いて ERG 信号の最大振幅レベルを $\pm 5V$ 近くまで増幅する. A/D変換器で12ビットすなわち0から4095の数値となった ERG 波形データはコンピュータに読み込まれ, トリガ信号が検出されると ERG 波形の採取が開始され, 記憶される. トリガ信号の検出には, まずトリガ信号の振幅を採取間隔約 $50\mu\text{sec}$ で連続して読み込んでおき, 現在採取している値と一つ前の値との差すなわち振幅の変化があらかじめ設定した値を越えた時初めてトリガ信号が到来したと設定する. このようにして一回の光刺激に対する ERG 波形がコンピュータに記録される. 同期加算によって雑音除去の効果を向上させるためにソフトウェアにアーティファクト除去処理をさせる. これには時間軸上の任意の区間に任意のウィンドウをあらかじめ設定し, ERG 波形が設定した一定の値に入らないときはアーティファクトと判定しそのデータを棄却する. その後次の光刺激に対する ERG 波形を同様に採取し, アーティファクトでないとは判定されれば順次同期加算する. ウィンドウは2区間に別々に設定可能となるようにプログラムされているので, ERG のような複合波形の処理に適している. この処理によって不用意な眼球運動や瞬目の影響を除去することができる. 加算の時間間隔はアーティファクト除去と加算処理に約0.1秒を要するので, 例えばデータの長さが0.5秒の時は約0.6秒必要である. 所定の同期加算を終えた ERG 波形はディスプレイに表示され, X-Yプロッタによって印刷される. また ERG データはコメントを付けてフロッピーディスクに保存し, 随時読みだすことが可能である. プログラムの主要部分は

Turbo Pascal で、高速処理を要する部分は機械語で記述されている。システムの初期設定やデータ採取、印刷、データ処理などの各機能はカラーディスプレイの画面上のメニューから選択できるようになっている。

3. 被験者

ほぼ正視であり、中間透光体に混濁なく、眼底に検眼鏡的異常を認めない25歳~30歳の健康な男性5名を対象とした。記録開始前に被験眼に0.5%塩酸フェニレフリンおよび0.5%トロピカミドを点眼した後に約1時間30分の暗順応を行った。最大刺激強度は280cd/m² (0log) であり、-7.3logの絶対閾値近傍から0logまでの範囲で記録を行った。刺激持続時間はintensity seriesでは10msecまたは100msecとし、duration seriesでは10から250msecまで刺激時間を変化させた。刺激光による順応状態への影響を抑えながら記録が長期間にわたらないように配慮して刺激間隔を4秒とした。増幅器として日本光電製 Neuropack II plus を用い、時定数2秒で記録を行った。閼電極として Dawson-Trick-Litzkow (DTL) fiber⁴⁾を下眼瞼結膜嚢に挿入し、不閼電極として銀一塩化銀電極を被験眼眼窩上縁の皮膚に装着し、接地電極として銀一塩化銀電極を被験眼側耳朶に置いた。

III 結 果

図3に正常者のERG intensity seriesの典型波形を示す。自覚的暗順応絶対閾値である-7.3logの刺激強度ではERG応答は観察されない。順次刺激を強めていくと-6.3logで初めてわずかな陰性の振れ(✓)が

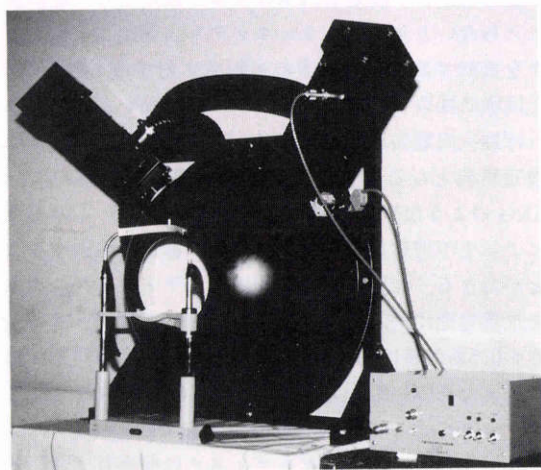


図1 刺激装置の外観。

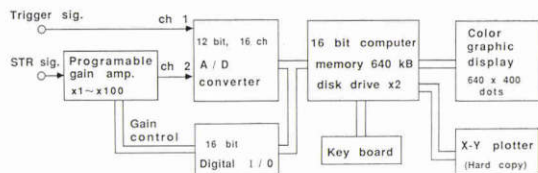


図2 記録装置のブロックダイアグラム。

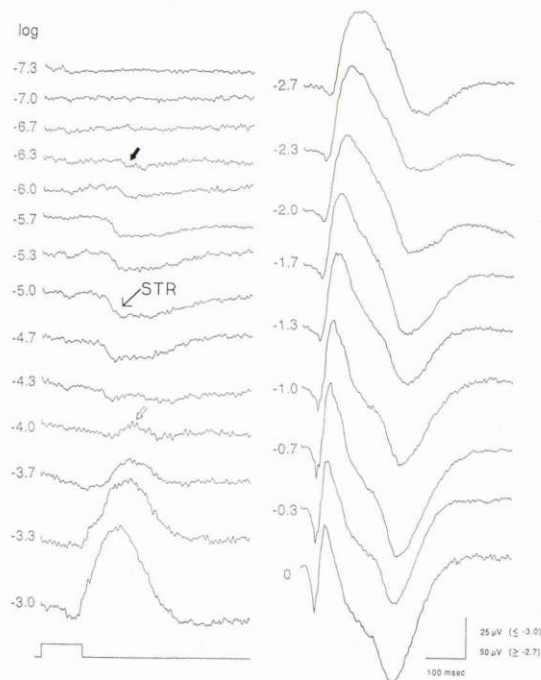


図3 正常者のERG intensity series. 0 logは280cd/m²に対応する。STR (✓), b波 (◇)。

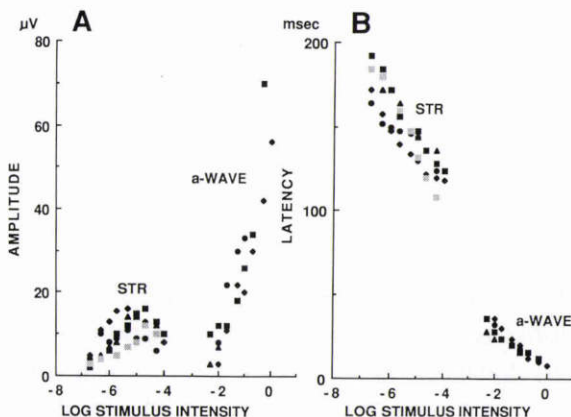


図4 ERGの最初の陰性波(STR, a波)の振幅-刺激強度曲線(A)および潜時-刺激強度曲線(B)。

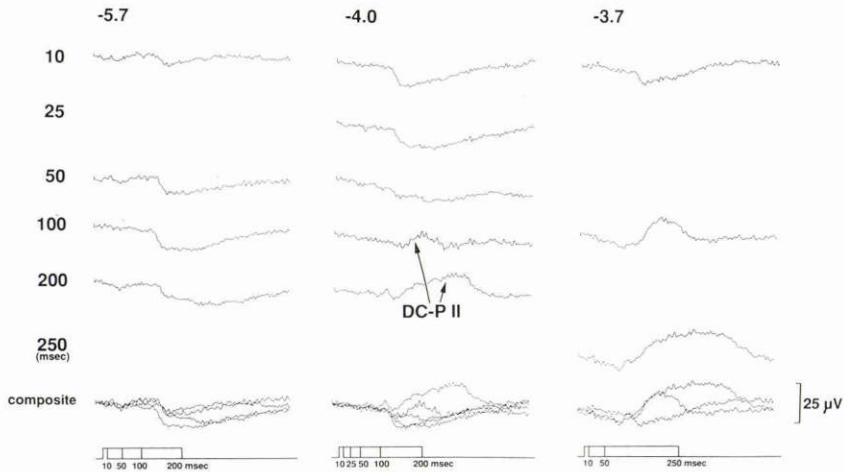


図5 刺激光の持続時間を変化させて記録したSTR. 上方の数字は刺激強度のlogを示し、0 logは280cd/m²に対応する。下方から2番目の波形は異なる持続時間の刺激光に対する応答の重ね合せである。左方の数字および最下方の波形は刺激光の持続時間を示す。

出現する。この陰性波がSTRである。刺激光強度を強めるに従い、STRは潜時を短くしつつ順次増大し、 $-5.0\log$ で最大振幅14.5 μV となり、そのさいの潜時は約145msecであった。さらに刺激光強度を強めていくとSTR振幅は徐々に減少し、 $-4.0\log$ 付近からb波が出現し始める(ⓧ)とともにSTR波形は不明瞭となった。 $-2.0\log$ からはa波が出現しその振幅は刺激光強度の増加とともに増大し、ERGの最初の波は陰性波であるa波となった。ERGの最初の陰性波(STRおよびa波)と刺激光強度の関係を図4に示す。これらの振幅-刺激強度曲線および潜時-刺激強度曲線で明らかのように、STRとa波はともにERGの初期陰性波でありながら刺激-応答域、最大振幅、潜時などの点で性質を異にし、STRとa波の起源の違いを反映していると思われる。

図5に刺激光強度 $-5.7\log$ 、 $-4.0\log$ 、 $-3.7\log$ におけるduration seriesの波形を示す。刺激光強度 $-5.7\log$ における波形をみると刺激持続時間10から200msecのいずれにおいてもSTRが明瞭に観察され、100msecまではSTRの時間的加重効果が認められた。200msecの刺激ではPIIのDC成分の出現のため、見かけ上STRの振幅は低下した。刺激光強度 $-4.0\log$ についてみると、持続時間10msecの刺激では明瞭なSTRが観察されたが、刺激時間が長くなるにつれてPIIのDC成分が台頭し、STRを不明瞭にした。これはDC成分の時間的加重による増大によるものと考

えられる。刺激光強度 $-3.7\log$ の波形では、100msec刺激による波形と250msec刺激による陽性波形の上行脚はほぼ重なっており、刺激光のoffに対応する陰性の急峻なoff応答がみられたことから、これらの波形ではPIIのDC成分が主となっていることがわかる。10msecの刺激においても陰性波形のbaselineへのもどりが早くなっていたことから、すでにDC成分が出現していることがわかる。

IV 考 按

STRは自覚的暗順応閾値近傍の極めて弱い刺激光によって惹起され、長い潜時をもち、緩やかな回復過程を示す陰性電位である⁹⁾。STRの発生源は網膜内微小電極記録にもとづいたCSD(current source density)分析⁹⁾によればネコでは網膜内顆粒層と網膜内網状層の境界にあり、グリシン作動性およびGABA作動性アマクリン細胞がその発生に深く関与している⁷⁾ことが見い出されている。STRの細胞起源については、しかしながら未だ不明の点が残されており、その基礎的研究の発展が種々の網膜疾患への臨床応用につながるかと期待されている。

しかしそのために必要なSTRの安定した記録には以下に示す数々の問題点がある。すなわち1) STRの振幅は最大約20 μV と小さく、したがって瞬目や眼球運動などのアーティファクトの影響を容易に受けちゃう。2) STRは潜時の長い緩やかな電位であるのでそ

の全貌をできるだけ忠実にとらえようとするとき定数を長く設定しなければならず、したがって緩徐な眼球運動の影響をも無視できない。3) STRは明順応によって容易に抑制され再び記録可能となるまで再度長い暗順応が必要となるので、一旦記録を始めたなら記録室を常に暗室のまま保つ必要がある。4) STRの記録では、刺激光による暗順応状態の修飾を受けないように刺激頻度を出来るだけ低くすることから、どうしても記録が長時間にわたることになるので、電極として非角膜障害性のもを使用する必要がある。5) STRの評価はSTRの振幅—刺激強度曲線を検討し、PIIの影響にさらされていない応答(たとえば図3の—6.3—5.0logの範囲)で行われる必要がある。なぜならPIIの閾値近くでは極くわずかな刺激光強度の変化によってPII振幅とSTRが影響し合いSTR振幅が大きく変化し、したがってSTR機能評価の指標として定量することが難しくなるからである。したがって刺激光強度と刺激時間の組み合わせを十分配慮した上でSTRとPIIの関係が明らかとなる十分な応答域を含む記録を行う必要がある。

今回考案したSTR記録システムは、上記の諸問題をほぼ全て解決した。すなわち上記の1および2の問題に対してはソフトウェアを用いてアーティファクトを自動的に排除出来る。3および4の問題に対しては、記録室外から中性フィルターのローターを遠隔操作することによって暗室の状態を変化させずに連続記録が出来、さらにDTL fiberを用いることによって角膜を障害することなく長時間の記録が可能でありしかも装用感も良好である。試作した全視野刺激ドームに設置されたシャッターと中性フィルターのローターを任意に組み合わせることによって閃光刺激では判別しにくいSTRとPIIの関係を明らかにすることが出来るので5の問題にも対応した。したがってこのシステムを用いることによって動物眼のみならず人眼における安定したSTR記録が達成されたといえる。STRの細胞起源や発生機序を研究することは、網膜のneural networkの基礎的研究にも役立つ。なぜなら暗順応閾値近傍で記録されたSTRが網膜内層レベルのsynaptic transmissionの結果を最も単純な形で反映していると予想されるからである^{8)~11)}。STRの細胞起

源やneural networkの研究発展と合わせて原因不明の種々の疾患および種々の夜盲性疾患へのSTRの臨床応用はこれらの疾患における初発ないし主病変部位の検索や病態生理の解明に有用と期待される。

文 献

- 1) Sieving PA, Frishman LJ, Steinberg RH: Scotopic threshold response of proximal retina in cat. *J Neurophysiol* 56: 1049—1061, 1986.
- 2) Sieving PA, Nino C: Scotopic threshold response (STR) of the human electroretinogram. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 1608—1614, 1988.
- 3) Wakabayashi K, Gieser J, Sieving PA: Aspartate separation of the scotopic threshold response (STR) from the photoreceptor a-wave of the cat and monkey ERG. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 1615—1622, 1988.
- 4) Dawson WW, Trick GL, Litzkow CA: Improved electrode for electroretinography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18: 988—991, 1979.
- 5) 若林謙二, Sieving PA: 暗所閾値電位(Scotopic threshold response: STR). 安達恵美子編, 眼科Mook, 41, 視覚電気生理最新の知識, 東京, 金原出版, 138—149, 1989.
- 6) Sieving PA, Wakabayashi K, Lemon W: Current source density analysis of cat scotopic threshold response. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29(ARVO): 103, 1988.
- 7) Naarendorp F, Adam M, Sieving PA: Glycine and GABA action on the scotopic threshold response of the cat. *Soc Neurosci Abs* 14: 989, 1988.
- 8) Dowling JE: *Retina*, The Belknap Press, Cambridge, 68, 1987.
- 9) Famiglietti EV Jr, Kolb H: A bistratified amacrine cell and synaptic circuitry in the inner plexiform layer of the retina. *Brain Res* 84: 293—300, 1975.
- 10) Nelson R: A comparison of electrical properties of neurons in Necturus retina. *J Neurophysiol* 36: 519—535, 1973.
- 11) Smith RG, Greed MA, Sterling P: Microcircuitry of the dark-adapted cat retina: Functional architecture of the rod-cone network. *J Neurosci* 6: 3505—3517, 1986.